

# Aktivitas Biolarvasida dan Bioinsektisida Bakteri Simbion Biota Laut : Laporan Riset Pengembangan dan Penerapan (RPP)

*by* Sulistiyani Sulistiyani

---

**Submission date:** 10-Oct-2019 02:59PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 1189925890

**File name:** H-25\_LAPORAN.pdf (743.33K)

**Word count:** 4527

**Character count:** 29233

LAPORAN RISET PENGEMBANGAN & PENERAPAN (RPP)



AKTIVITAS BIOLARVASIDA DAN BIOINSEKTISIDA  
BAKTERI SIMBION BIOTA LAUT

Tahun ke 3 dari rencana 3 tahun

TIM PENGUSUL

Dr. Dra. Sulistiyani, M.Kes (004106607)  
Dra. Retno Hestningsih, MKes (0008026602)  
Nikie Astorina, Y.D., SKM.MKes (0614068801)

FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
FEBRUARI, 2017

## BAB I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Indonesia sebagai negara di wilayah tropis memiliki beragam jenis penyakit tropis antara lain penyakit yang diakibatkan oleh perantara nyamuk yaitu penyakit Malaria, penyakit Filariasis, penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD). Morbiditas Malaria pada satu wilayah ditentukan dengan Annual Parasite Incidence (API) per tahun. API merupakan jumlah kasus positif malaria per 1.000 penduduk dalam satu tahun. Tren API secara nasional sejak tahun 2011 mengalami penurunan. API tahun 2011: 1,75 ; tahun 2012: 1,69 ; tahun 2013: 1,38 ; tahun 2014: 0,99 dan tahun 2015: 0,85 per 1000 penduduk. Filariasis merupakan penyakit kronis menahun yang tidak menyebabkan kematian namun menyebabkan kecacatan. Angka kejadian filariasis atau prevalensi orang yang mengandung mikrofilaria adalah antara 1- 5 % dan penderita filariasis dengan manifestasi limfedema/ elephantiasis/hidrokel cenderung meningkat. Pada tahun 2012 adalah 11.903, pada tahun 2013 adalah 12.714 dan pada tahun 2015 adalah 14.932. Penyakit DBD masih menjadi permasalahan kesehatan masyarakat pada saat ini dikarenakan tingginya jumlah kasus DBD dan kematian yang disebabkan penyakit akibat perantara vektor nyamuk *Aedes aegypti* ini. Angka kesakitan DBD thn 2013 tercatat 112.511 kasus dengan 871 meninggal dunia. Pada tahun 2014 menunjukkan 100.347 penderita DBD dan 907 meninggal dunia. Sedangkan data tahun 2015 menunjukkan peningkatan yaitu 126.675 penderita DBD dan 1.229 orang meninggal dunia.

Target utama dalam pengendalian Malaria yaitu: 300 kabupaten/kota tereliminasi, 400 kabupaten/kota yg dengan API < 1 per 1000 penduduk (Endemis Rendah Malaria), dan eliminasi Malaria di Indonesia tahun 2030. Target pengendalian filariasis adalah eliminasi filariasis tahun 2020. Sedangkan target pengendalian DBD yaitu menurunkan angka kesakitan dan angka kematian DBD seminimal mungkin. angka kesakitan DBD di bawah 51 per 100.000 penduduk dan angka kematian di bawah 1% pada tahun 2014. Untuk mencapai target pengendalian DBD tersebut pemerintah menggerakkan program PSN 3Mplus yaitu pemberantasan sarang nyamuk dengan gerakan 3M yaitu menguras, mengubur dan menutup serta ditambahkan dengan plus yaitu mencegah gigitan nyamuk dengan menggunakan berbagai cara antara lain dengan menggunakan kelambu, menggunakan obat antinyamuk seperti insektisida dan larvasida (Aditama, 2014).

Penggunaan larvasida dan insektisida secara terus menerus dan tidak terukur dapat menyebabkan resistensi dan membahayakan lingkungan. Resistensi terhadap temephos sebagai larvasida yang digunakan dalam abate telah dilaporkan diberbagai wilayah di dunia termasuk di Indonesia. Resistensi nyamuk *Ae. aegypti* terhadap insektisida golongan piretroid telah dilaporkan di berbagai negara, termasuk Indonesia. *Ae. aegypti* dilaporkan resisten terhadap insektisida sipermetrin di Semarang dan terhadap deltametrin dan permetrin di Bandung, Palembang, Surabaya dan Semarang(Sayono et al., 2012). Untuk itu perlu didapatkan metode pengendalian larva nyamuk dan nyamuk dewasa dengan cara pengendalian yang ramah lingkungan dan menggunakan bahan yang aman digunakan dan tersedia secara terus menerus tanpa merusak lingkungan.

Salah satu bahan yang berasal dari alam dan tidak membahayakan konservasi lingkungan adalah bakteri simbion. Bakteri simbion biota laut yaitu mikroorganisme yang hidup bersama dengan biota laut, ternyata dapat menghasilkan metabolit sekunder yang mirip dengan inangnya(Proksch et al., 2003). Metabolit sekunder (disebut juga produk natural) merupakan senyawa organik yang tidak terlibat langsung dalam pertumbuhan normal atau reproduksi dari organisme, namun digunakan untuk bertahan terhadap serangan predator, parasit dan penyakit serta kompetisi antara spesies dan untuk memfasilitasi proses reproduksi (seperti daya tarik melalui warna, bau dan lainnya)(Venugopal, 2009). Ada beraneka ragam senyawa bioaktif hasil metabolit sekunder yang dihasilkan oleh organisme laut seperti golongan alkaloid, terpenoid, sulfat polisakarida, peptida dan senyawa kimia yang baru ditemukan(Venugopal, 2009). Keragaman biota laut menunjukkan keragaman bioaktif yang terkandung dari masing-masing biota laut tersebut yang memiliki berbagai manfaat untuk digunakan sebagai antifouling, antibakteri, biopigmen, bahan kosmetik, antibiotik. Seperti hasil penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh peneliti yang memperlihatkan bahwa bakteri simbion *Simularia* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen yang resisten(Sulistiyani et al., 2010a) dan bakteri simbion *Simularia* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri TB (Sulistiyani et al., 2010b), selain itu rumput laut *Enhalus* sp. juga memiliki kemampuan antimikobakterial terhadap bakteri MDR TB(Sulistiyani et al., 2015).

Biota laut selain terdiri dari ikan, juga terdapat rumput laut dan terumbu karang. Jenis-jenis terumbu karang antara lain sponge, karang, tunikata, bryozoa, moluska dan

karang lunak(Sya'rani and Suryanto, 2006). Diantara jenis organisme tersebut sponge dan karang lunak merupakan organisme yang sangat melimpah dan memiliki jenis yang beragam di Lautan Indo-Pasifik(Wah et al., 2006).

Penelitian di tahun pertama yaitu didapatkannya 42 spesies biota laut yang menjadi sampel penelitian, hasil isolasi mendapatkan 48 sampel isolate murni. Selanjutnya telah discreening bakteri simbiosis biota laut yang memiliki aktivitas kitinase yaitu isolat MB-CL5, yang disebut sebagai bakteri kitinolitik. Hasil penelitian tahun pertama Bakteri kitinolitik diharapkan dapat berperan sebagai biolarvasida karena menghasilkan enzim kitinase yang mampu mendegradasi eksoskeleton dari nyamuk. Ekstraksi MB-CL5 dengan menggunakan methanol memiliki kemampuan sebagai biolarvasida terhadap larva *Ae.aegypti* Pada tahun ke 2 telah dilanjutkan dengan menguji ekstrak MB-CL5 terhadap nyamuk *Ae.aegypti* Hasil uji probit bioinsektisida terhadap nyamuk *Ae.aegypti* yaitu LC50 yaitu 171,923 ppm dan LC90 adalah 660,957 ppm. Selain itu juga telah dilakukan identifikasi molekuler dan BLAST dan teridentifikasi bahwa bakteri isolat MB-CL5 adalah bakteri *Pseudoalteromonas shioyasakiensis* dan diuji GCMS. Hasil GCMS kandungan ekstrak MB-CL5 adalah Ethanol D5 (47,17%), 9,12,15-Octadecatrienoic acid (21,46%), 2Amino 3-chloro-propionic acid methylester (14,85%), 2 propenoic acid,isodecylester (16,53%).

Selain itu juga didapatkan ekstrak SCRTG4P4 yang juga memiliki aktivitas sebagai biolarvasida pada  $LC_{50} = 0.275\%$  and  $LC_{90} 0.40\%$ . Berdasarkan sequencing gen dengan 16S rRNA, isolat SCRTG4P4 memiliki 1386 nucleotide. Dan teridentifikasi molekuler sebagai *Bacillus subtilis*,

Diharapkan biolarvasida dan bioinsektisida yang akan didapatkan memiliki peran dalam mengurangi angka kesakitan akibat penyakit yang disebarkan oleh vektor nyamuk sehingga derajat kesehatan masyarakat dapat meningkat.

## **B. Rumusan Masalah**

Pengendalian nyamuk dapat dilakukan dengan menggunakan larvasida untuk mematikan larva nyamuk ataupun insektisida untuk mematikan nyamuk dewasa. Namun permasalahan resistensi terhadap larvasida dan insektisida yang telah berpuluh tahun digunakan memerlukan alternatif biolarvasida dan bioinsektisida. Disisi lain Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati yang berasal dari lautan yang belum tergali potensi besarnya, seperti kandungan senyawa bioaktif yang berasal dari sumber hayati laut yaitu bakteri yang bersimbiose dengan biota laut banyak yang belum diteliti, menimbulkan keinginan peneliti untuk mendapatkan biolarvasida dan bioinsektisida yang berasal dari

bakteri simbiosis biota laut. Untuk itu rumusan masalah yang dapat diajukan yaitu:  
Bagaimana aktivitas biolarvasida dan bioinsektisida dari bakteri simbiosis biota laut?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini memiliki tujuan umum yaitu :

Mengkaji aktivitas biolarvasida dan bioinsektisida bakteri simbiosis biota laut

Adapun tujuan khusus dari penelitian tahun ke 3 ini adalah:

1. Membuat biolarvasida dari bakteri simbiosis biota laut yang paling berpotensi
2. Membuat bioinsektisida dari bakteri simbiosis biota laut yang paling berpotensi

### **D. Urgensi Penelitian**

Adanya permasalahan tingginya angka kesakitan penyakit yang disebarkan oleh vektor nyamuk seperti Malaria, Filariasis dan DBD serta adanya permasalahan resistensi larvasida dan insektisida yang telah digunakan selama puluhan tahun untuk pengendalian larva dan nyamuk dewasa. Memerlukan alternatif larvasida dan insektisida yang berasal dari keanekaragaman hayati laut Indonesia dan terjaga keberlanjutannya. Untuk itu perlu dilakukan kelanjutan penelitian untuk mendapatkan biolarvasida dan bioinsektisida yang berasal dari bakteri simbiosis biota laut. Hal ini secara umum diharapkan dapat berperan dalam menurunkan angka kesakitan penyakit yang disebarkan oleh vektor nyamuk dan dapat meningkatkan derajat kesehatan masyarakat Indonesia.

### **E. Luaran Penelitian**

Luaran penelitian yang diharapkan adalah didapatkannya produk biolarvasida dan bioinsektisida yang dapat digunakan untuk mengendalikan larva dan nyamuk dewasa. Selain itu luaran penelitian yang penting adalah dihasilkannya publikasi di jurnal internasional/Proceeding Internasional terindeks. Telah diterbitkan pada *Journal American Scientific Publisher* dengan judul artikel *Activities of Bio Larvacides from Bacterial Symbiont of Marine Softcoral Sarcophyton sp. SCRTG4P4 against Aedes aegypti*. Selain itu bila telah diproduksi biolarvasida dan bioinsetisida maka akan diusulkan HAKI.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

Bakteri simbios biota laut memiliki berbagai macam manfaat seperti yang telah didapatkan dari hasil penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh peneliti yang memperlihatkan bahwa bakteri simbios *Simularia* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen yang resisten (Sulistiyani et al., 2010a) dan bakteri simbios *Simularia* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri TB (Sulistiyani et al., 2010b), selain itu rumput laut *Enhalus* sp. juga memiliki kemampuan antimikobakterial terhadap bakteri MDR TB (Sulistiyani et al., 2015).

### **Mikroba Simbios Biota Laut**

Laut merupakan sumber keanekaragaman hayati dan kimia yang sangat berlimpah. Hal ini karena luas lautan mencakup lebih dari 70% dari permukaan bumi dan berisi lebih dari 300.000 jenis spesies tanaman dan hewan. Hanya dari sebagian kecil tanaman laut, binatang, dan mikroba yang telah diteliti, menghasilkan lebih dari 12.000 bahan kimia baru (Biotechnology, 2002).

Indonesia sebagai negara kepulauan terbesar di dunia yang terdiri dari 17.508 pulau dan dikelilingi oleh lautan, memiliki luas laut yang terbentang di wilayah Indonesia mencapai 22,4 juta kilometer persegi atau 70% dari luas total teritorial Indonesia, dengan garis pantai sekitar 81.000 km. Serta hamparan terumbu karang seluas 75.000 km<sup>2</sup>. Sepanjang garis pantai dan bentangan perairan laut terkandung sumber daya alam yang melimpah mulai dari sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui seperti bahan tambang termasuk minyak bumi dan gas bumi serta mineral, sampai dengan sumber daya yang dapat diperbaharui seperti ikan, rumput laut, kayu bakau dan terumbu karang. Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang sangat besar (*megadiversity*), yakni 17% dari seluruh jumlah spesies di dunia, walaupun luasnya hanya 1,3% dari luas daratan di dunia (Dahuri et al., 2001). Jenis spesies di lautan antara lain ikan, tanaman laut, krustasea, moluska, cnidarians, mamalia, porifera, echinoderma, platyhelminthes dan mikroba (Webster and Hill, 2007).

Lautan memiliki beberapa kawasan yaitu kawasan pelagik meliputi daerah perairan terbuka dan kawasan bentik yang merupakan zona dasar laut. Secara horizontal, kawasan pelagik dapat dibagi menjadi zona neritik dan zona oseanik. Zona neritik merupakan massa air di atas paparan benua, sedangkan zona oseanik meliputi semua perairan terbuka lainnya. Secara vertikal kawasan pelagik terbagi menjadi zona fotik (sering pula disebut zona epipelagik) yaitu kawasan pelagik yang mendapat cahaya, pada umumnya kedalamannya

mencapai 100-150 meter. Sedangkan kawasan pelagik yang berada dalam kegelapan dibawah zona fotik yaitu zona afotik(Nybakken, 1991).

Zona afotik terbagi menjadi zona mesopelagik dengan kedalaman berkisar 700-1000 meter; zona batipelagik dengan kedalaman mencapai 2000-4000 meter; zona abisal pelagik yang mencapai 6000 meter; zona *hadal pelagik* yang meliputi perairan terbuka dari palung lautan dalam dengan kedalaman 6000-10.000 meter. Zona batipelagik, zona abisalpeligik dan zona hadal pelagik termasuk dalam kawasan bentik(Nybakken, 1991).

Kawasan bentik yang masih mendapat cahaya pada umumnya dihuni oleh organisme yang melimpah yang terdiri dari berbagai komunitas termasuk padang rumput (padang lamun), kebon kelp (algae) dan terumbu karang(Nybakken, 1991). Rumput-rumputan laut merupakan tumbuhan berbunga (angiospermae) yang beradaptasi untuk hidup terendam di dalam air laut. Nutrien untuk hidupnya didapatkan dari sedimen atau substrat. Dapat ditemui sampai kedalaman 50 atau 60 meter. Di seluruh dunia hanya mencakup sekitar 50 spesies dan jumlah spesies di daerah tropik lebih banyak. Diantara jenis rumput-rumputan laut yaitu *Zostera marina* (lamun/samo-samo), *Thalassia testudinum* (turtle grass), *Enhalus acroides*, *Halophila ovalis*, *Cymodocea serrulata*, *Thalassodendron ciliatum*. *Enhalus acroides* merupakan salah satu jenis lamun yang melimpah di perairan Indonesia. Lamun memiliki peranan penting di dalam ekologi perairan laut karena fungsinya sebagai penyedia makanan, shelter dan support untuk kehidupan krustasea, ikan dan organisme epifit. Seperti tumbuhan tingkat tinggi lainnya, lamun berperan sebagai produsen primer dalam perairan laut, dengan produktivitas primer berkisar antara 500-1000 gC/m<sup>2</sup>/tahun(Sya'rani and Suryanto, 2006). Bakteri epifit dan endofit yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus* sp. memiliki kemampuan bioaktif menghambat bakteri pembentuk biofilm(Marhaeni et al., 2010).

Terumbu karang merupakan ekosistem yang khas terdapat di daerah tropis. Meskipun terumbu karang ditemukan di seluruh perairan dunia, tetapi hanya di daerah tropis terumbu karang dapat berkembang dengan baik. Terumbu terbentuk dari endapan-endapan masif terutama kalsium karbonat yang dihasilkan oleh organisme karang, alga berkapur dan organisme-organisme laut yang mengeluarkan kalsium karbonat (Nybakken, 1991).

Ekosistem terumbu karang memiliki produktivitas organik yang sangat tinggi dibandingkan ekosistem lainnya, demikian pula dengan keanekaragaman hayatinya. Disamping memiliki fungsi ekologis sebagai penyedia nutrisi bagi biota perairan, pelindung fisik, tempat pemijahan, tempat bermain dan asuhan bagi berbagai biota; terumbu karang juga

menghasilkan berbagai produk yang memiliki nilai ekonomis yang penting seperti jenis hewan karang(Dahuri et al., 2001).

Ekosistem terumbu karang tersusun dari berbagai jenis organisme invertebrata laut seperti sponge, karang lunak, karang keras, tunikata dan lainnya. Pada umumnya organisme invertebrata laut tersebut tidak memiliki pertahanan secara fisik, sehingga secara evolusi mereka memanfaatkan metabolit sekunder yang dihasilkannya untuk bertahan terhadap predator, kompetitor, organisme penempel (*fouling*) dan patogen lainnya(Radjasa, 2008). Selain itu kandungan bioaktif natural produk dari invertebrata penyusun terumbu karang seperti sponge, bryozoa, *softcorals*, moluska, tunikata merupakan potensi untuk pengembangan industri farmasi, kosmetik, *supplement* nutrisi, enzim dan kimia pertanian(Sabdon, 2008). Akan tetapi terdapat keterbatasan suplai dari invertebrata laut karena konsentrasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam invertebrata laut tersebut sangat rendah, terkadang kurang dari  $10^{-6}$  % dari berat basah. Sebagai contoh untuk mendapatkan sekitar 1 gram agen anti kanker yang menjanjikan ET-743, memerlukan 1 metrik ton berat basah dari organisme tunikata *E. turbinata* yang harus diambil dan diekstrak(Proksch et al., 2002).

Invertebrata terumbu karang memiliki simbiosis yang berupa bakteri yang mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa metabolit yang secara struktural mirip dengan organisme inangnya(Radjasa, 2008). Simbiosis merupakan hubungan yang terjadi antara organisme dari spesies yang berbeda. Mikroba laut terlibat dalam berbagai hubungan simbiosis penting dengan invertebrata laut dari berbagai taksa termasuk sponge, cnidaria, moluska, echinodermata dan nematoda. Fungsi simbiosis untuk mikroba laut yaitu bertujuan untuk mendapatkan nutrisi melalui penggabungan langsung materi organik terlarut dalam air laut, atau translokasi photosynthate, kuorum sensing. Selain itu mikroba simbiosis memberikan bantuan pada proses reproduksi, bantuan pada pertahanan kimia, kontribusi terhadap keterkaitan struktural, metabolisme dari berbagai senyawa limbah, dan produksi metabolit sekunder. Ada juga simbiosis di mana jenis interaksi antara pejamu dan simbiotiknya masih belum diketahui. Dengan berbagai fungsi dan kondisi lingkungan yang mempengaruhi distribusi atau kelimpahan mikroba simbiotik laut, dapat memberikan efek yang bermakna pada kelangsungan hidup host/pejamunya(Webster and Hill, 2007).

Mikroba laut merupakan spesies yang paling banyak jumlahnya. Dalam 1 liter air laut diperkirakan terdapat lebih dari 1 miliar mikroba. Keanekaragaman hayati dan peran fungsional komunitas mikroba di lingkungan laut memiliki peran yang sangat bermakna.

Keterbatasan metode kultur mikroba menyebabkan hanya 0,1% sampai 1% dari mikroba laut yang dapat dibiakkan pada media kultur dengan pendekatan konvensional. Hal ini berarti bahwa keragaman, filogeni dan fungsi mikroba laut sebagian besar belum diteliti. Sebenarnya perkiraan dari keragaman mikroba laut berkisar dari hanya beberapa ribu sampai dua juta spesies. Sebagian besar analisis menggunakan kriteria lebih dari 97 persen identitas urutan dalam subunit kecil ribosom RNA untuk menentukan spesies atau takson (Webster and Hill, 2007).

Suatu penelitian yang telah dilakukan dengan membandingkan potensi antimikroba dari mikroba yang diambil dari air laut dan sedimen laut dengan potensi mikroba simbiosis dari invertebrata dan rumput laut menunjukkan bahwa mikroba simbiosis dapat memproduksi substansi antimikroba yang lebih banyak dibandingkan dengan mikroba air laut dan sediment laut (Zheng et al., 2005).

#### **4 Bioinsektisida**

Bioinsektisida adalah bahan-bahan alami yang bersifat racun serta dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan, tingkah laku, perkembangbiakan, kesehatan, mempengaruhi hormon, penghambat makan, membuat mandul, sebagai pemikat, penolak, dan aktivitas lainnya yang dapat mempengaruhi organisme pengganggu tanaman. Penggunaan bahan-bahan yang berasal dari tumbuhan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif penggunaan insektisida sintetik yang sering disebut pestisida nabati atau bioinsektisida. Alternatif ini dianggap perlu karena kandungan residu insektisida sintetik yang dianggap dapat berakibat fatal, bukan hanya terhadap kesehatan tumbuhan yang dikenal terlebih dahulu berfungsi sebagai bioinsektisida dan telah diproduksi secara komersial diberbagai Negara adalah *Chrysanthemum cenerariaefolium* (piretrin), *Nicotiana tabacum* (nikotin), dan *Derris spp.* (rotenon) (Sastroutomo, 2012). Bioinsektisida dapat dijadikan sebagai solusi pemecahan masalah penggunaan insektisida sintetik. Hal ini dikarenakan aplikasi bioinsektisida pada umumnya tidak menimbulkan residu sehingga aman bagi kesehatan manusia dan lingkungan (Sastroutomo, 2012).

**3** Pada saat ini hanya beberapa insektisida biologi yang sudah digunakan dan diperdagangkan secara luas. Mikroba patogen yang telah sukses dan berpotensi sebagai insektisida biologi salah satunya adalah *Bacillus thuringiensis* (Khetan, 2001). *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* telah diproduksi sebagai insektisida biologi dan diperdagangkan dalam berbagai nama seperti Dipel, Sok-Bt, Thuricide, Certan dan Bactospeine. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* diperdagangkan dengan nama Bactimos, BMC, Teknar dan

Vektobak. Jenis insektisida ini efektif untuk membasmi larva nyamuk dan lalat(Khetan, 2001).

Jenis insektisida biologi yang lainnya adalah yang berasal dari protozoa, *Nosema locustae*, yang telah dikembangkan untuk membasmi belalang dan jengkerik. Nama dagangnya ialah NOLOC, Hopper Stopper. Cacing yang pertama kali didaftarkan sebagai insektisida ialah *Neoplectana carpocapsae*, yang diperdagangkan dengan nama Spear, Saf-T-Shield. Insektisida ini digunakan untuk membunuh semua bentuk rayap(Khetan, 2001).

### **BAB III. METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan 2 jenis penelitian yaitu Observasional dan eksperimental. Jenis penelitian observasional dilakukan dengan disain *survey* untuk mendapatkan isolat bakteri simbiosis biota laut yang berasal dari perairan di wilayah kepulauan Karimunjawa Jepara, Jawa Tengah. Selanjutnya mengidentifikasi morfologi isolat bakteri simbiosis biota laut yang telah didapatkan.

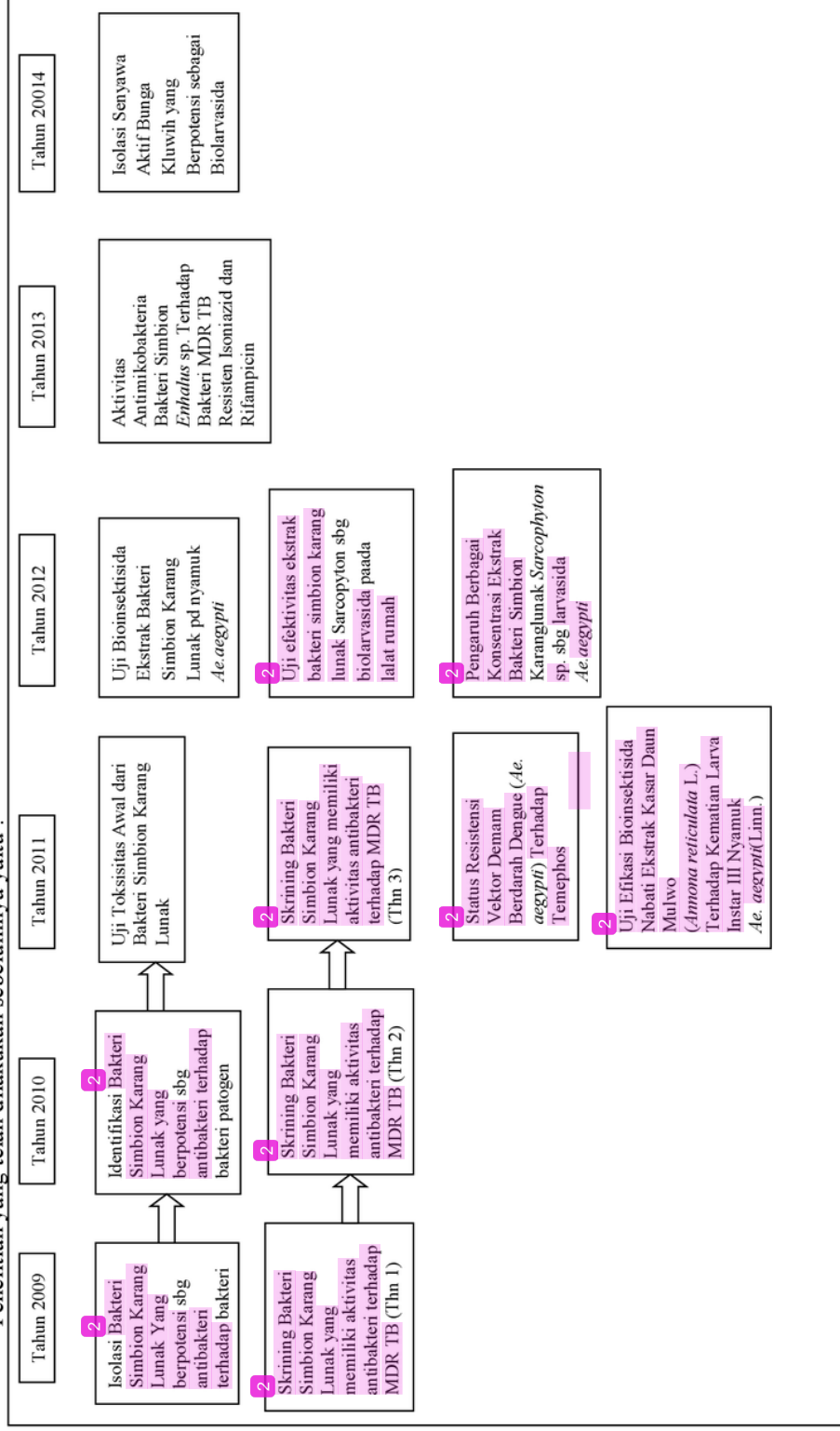
Jenis penelitian eksperimental dilakukan dengan menggunakan disain *post test only control group* untuk mendapatkan konsentrasi dari ekstrak bakteri simbiosis biota laut yang memiliki aktivitas biolarvasida pada  $LC_{50}$  dan  $LC_{90}$  terhadap larva *Ae.aegypti*, *Anopheles* sp. dan *Culex* sp. Selain itu juga untuk mendapatkan konsentrasi dari ekstrak bakteri simbiosis biota laut yang memiliki aktivitas bioinsektisida pada  $LC_{50}$  dan  $LC_{90}$  terhadap nyamuk *Ae.aegypti*, *Anopheles* sp. dan *Culex* sp. Selanjutnya pada tahun berikutnya akan dilakukan pengujian

Perlakuan pada penelitian ini adalah dengan memberikan berbagai variasi konsentrasi ekstrak bakteri simbiosis biota laut terhadap larva nyamuk dan nyamuk dewasa. Kontrol pada penelitian adalah kelompok larva nyamuk dan nyamuk dewasa yang tidak mendapat perlakuan ekstrak bakteri simbiosis. Kontrol (+) yaitu kelompok larva dan nyamuk dewasa yang mendapat larutan pelarut ekstrak (solvent) dan Kontrol (-) yaitu kelompok larva dan nyamuk dewasa yang mendapat larutan aquadestilata. Dilakukan penghitungan kematian larva dan nyamuk pada jam waktu 1x24jam.



## B. Alur Penelitian Yang Telah Dilakukan

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yaitu :

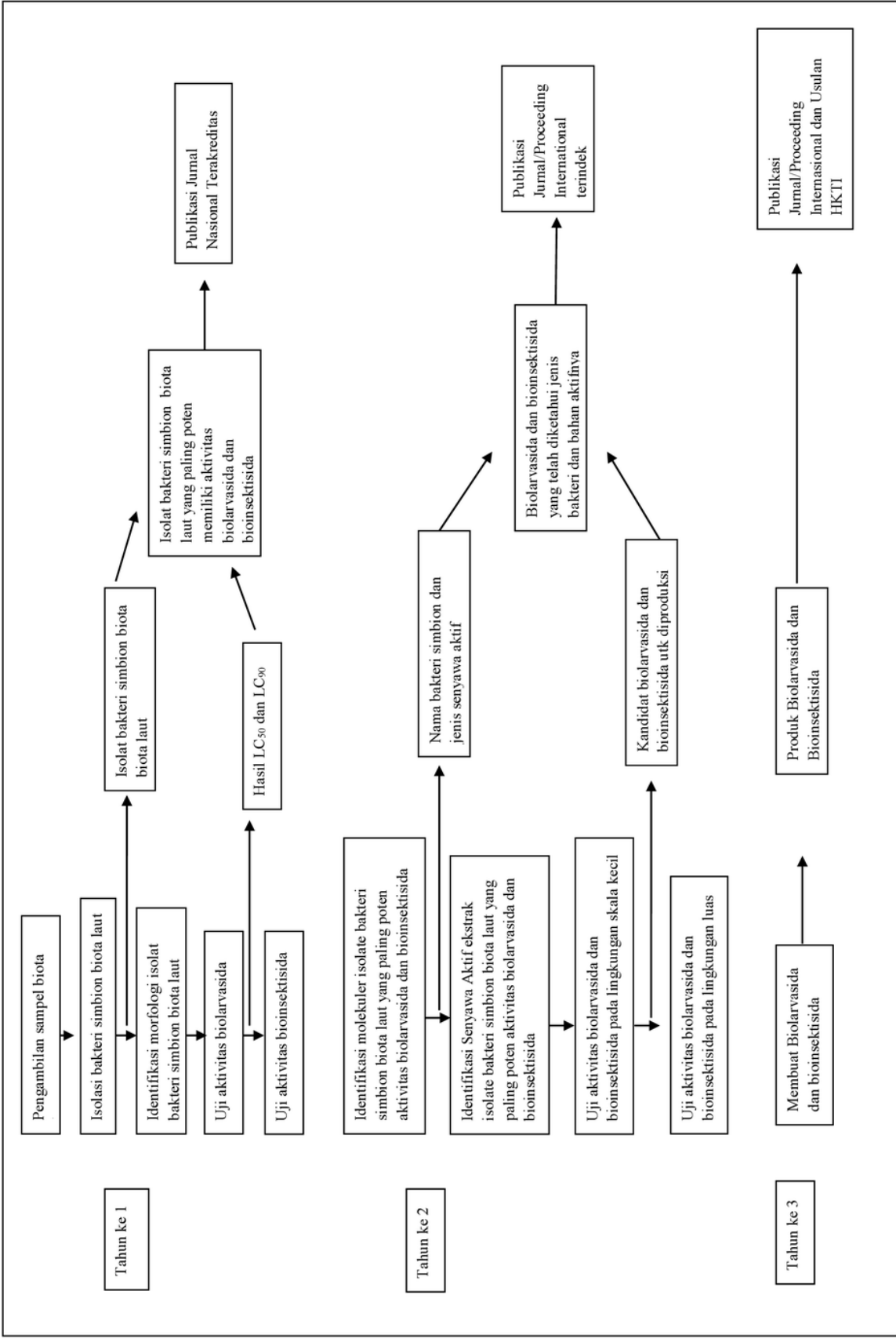


Hasil yang telah didapatkan dari penelitian terdahulu menunjukkan bahwa bakteri simbion karang lunak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen, bakteri MDR TB. Selain itu bakteri simbion karang lunak juga memiliki aktivitas biolarvasida terhadap larva nyamuk *Ae.aegypti* dan lalat *Musca domestica* serta aktivitas bioinsektisida terhadap nyamuk *Ae.aegypti*. Disisi lain telah terjadi resistensi pada larvasida Temephos sebagai bahan aktif untuk abate.

### **C. Alur Penelitian Yang Akan Dilakukan dan Luaran Yang Diharapkan**

Pada penelitian yang akan dilakukan peneliti bermaksud melanjutkan penelitian dengan mencari isolat bakteri simbion biota laut lainnya seperti alga, lamun, sinularia, sponge dan lainnya yang memiliki aktivitas biolarvasida dan bioinsektisida. Tahun pertama penelitian dilakukan dalam skala laboratorium untuk mendapatkan isolat bakteri yang paling potensial sebagai biolarvasida dan bioinsektisida, serta  $LC_{50}$  dan  $LC_{90}$  dari ekstrak bakteri simbion biota laut. Tahun kedua penelitian akan melakukan identifikasi molekuler isolat yang paling potensial sebagai biolarvasida dan bioinsektisida, serta karakterisasi kandungan bioaktif isolate tersebut. Dilanjutkan dengan pengujian biolarvasida dan bioinsektisida pada lingkungan skala kecil dan pada lingkungan yang luas. Tahun ke 3, penelitian dilanjutkan dengan membuat produk biolarvasida dan bioinsektisida

Adapun tahapan penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada alur penelitian sebagai berikut:



#### D. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ruang laboratorium, peralatan alat gelas, rotavapor Buchi 461, *microcentrifuge* (Tomy/MX-301), *incubator shaker* (Takasaki Scientific Instrument), *freeze drying* (HETO CD 2.5), *centrifugal concentrator* (TOMY CC-105), Kjeldahl (Velp Scientifica UDK 132), Spektrofotometer (Shimadzu UV-160A), HPLC (Waters 2695),  $^1\text{H}$  &  $^{13}\text{C}$  NMR (Bruker AV-500), Gas Chromatografi Mass Spectro (GCMS) Sonicator Ultrasonic Processor XL 2020, Centrifuge Beckman.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi air laut steril, Pepton/*Bacto Pentone* (Difco), ekstrak yeast (Difco), ekstrak malt (Oxoid), glukosa (Merck), *Bacto agar* (Difco), MiddleBrook (BD), OADC (BD), Fe (III) sitrat hidrat (Merck), metanol p.a (JT Baker), etil asetat p.a (JT Baker), metanol HPLC (Merck), kloroform HPLC (Merck), maltosa (Merck), laktosa (Merck), sukrosa (Merck), molase, dekstrin (Oxoid), asam glutamat (Merck), amonium sulfat (Merck), kasein hidrolisat/*Casamino acid* (Difco),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (Merck),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Merck),  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Merck),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Merck),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Merck),  $\text{Cu}\cdot\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Merck),  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Merck),  $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Merck),  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Merck), NaCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Merck), HCl (Merck), NaOH (Merck), DNS (Sigma),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  95-97% (Merck),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (Merck), silika gel 60 (0,063-0,200mm) Merck.

#### E. Tempat penelitian

Penelitian akan dilakukan di beberapa laboratorium yaitu :

- Laboratorium terpadu Universitas Diponegoro
- Laboratorium FKM UNDIP
- Laboratorium Rekayasa FTP UNIKA
- Laboratorium Kimia Organik STIFAR

#### **BAB IV. HASIL PENELITIAN**

Hasil penelitian tahun ke 3, yaitu membuat produk bioinsektisida dan biolarvasida. Produk bioinsektisida dibuat dalam sediaan cream oles dan produk biolarvasida dibuat dalam sediaan mikroenkapsulasi.

Saat ini telah dikerjakan pembuatan sediaan cream oles untuk bioinsektisida, selanjutnya akan dikerjakan pula pembuatan mikroenkapsulasi, dimana saat ini sedang dikerjakan proses ekstraksi bakteri simbiosis biota laut untuk kegunaan mikroenkapsulasi. Tahapan berikutnya adalah mendaftarkan hasil produk tersebut untuk mendapatkan HAKI.

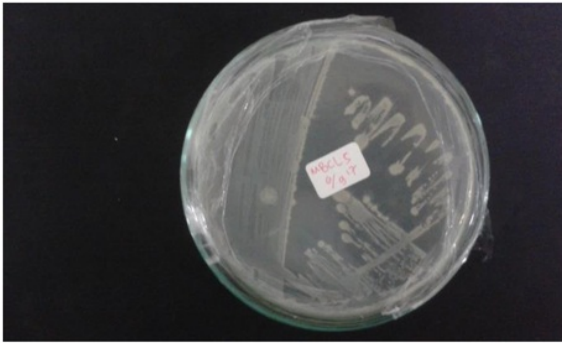


Foto 1. Isolat bakteri MBCL5



Foto 2. Kultur Bakteri untuk di ekstrak

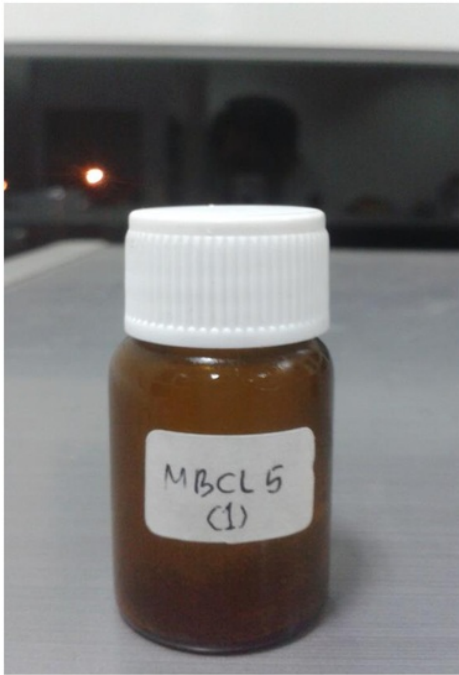


Foto 3. Ekstrak dari bakteri MBCL5

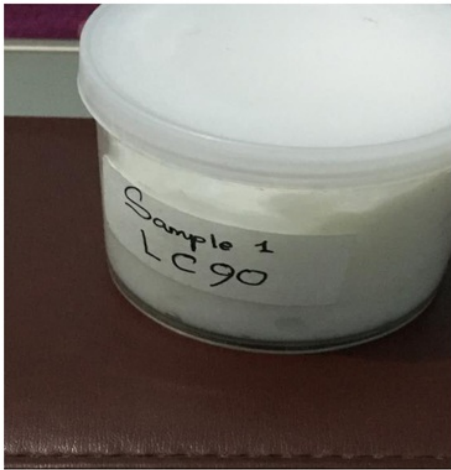


Foto 4. Hasil pembuatan cream oles MBCL5



Foto 5. Hasil pembuatan cream oles MBCL5

Saat ini sedang dilakukan persiapan untuk pembuatan sediaan mikroenkapsulasi yang akan dilakukan di laboratorium farmasi UGM. Dan sedang dilakukan pengajuan paten untuk hasil cream oles anti nyamuk. Selanjutnya juga akan dilakukan pengajuan paten untuk hasil mikroenkapsulasi untuk larvasida.

## **BAB V. SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Telah dihasilkan cream anti nyamuk dari ekstrak bakteri simbion biota laut MBCL5
2. Sedang dikerjakan mikroenkapsulasi untuk larvasida dari bakteri simbion biota laut MBCL5
3. Sedang diajukan pengurusan hak paten atas hasil cream anti nyamuk MBCL5

### **Saran**

Berdasarkan penelitian yang telah dikerjakan dapat disarankan sebagai berikut:

1. Perlu dilanjutkan dengan dilakukan penelitian yang menguji Man Biting Rate (MBR) untuk penggunaan cream antinyamuk yang dihasilkan
2. Perlu dilanjutkan dengan dilakukan penelitian tentang rentang waktu larvasida dari mikroenkapsulasi yang telah dihasilkan dapat bertahan di dalam bak air ukuran rumah tangga

## DAFTAR PUSTAKA

- Aditama, T. Y. 2014. Penyakit yang disebabkan oleh Nyamuk dan cara Pencegahannya serta Target yang akan dicapai oleh Pemerintah. Jakarta: Direktorat Jenderal PP dan PL Kementerian Kesehatan RI
- Biotechnology, C. O. M. 2002. Marine biotechnology in the twenty first century: problems, promise and products. Washington, DC: National Academic Press.
- Dahuri, R., J.Rais., S.P. Ginting & M.J. Sitepu 2001. *Pengelolaan sumber daya wilayah pesisir dan lautan secara terpadu*, Jakarta, PT. Pradnya Paramita.
- Khetan, S. K. 2001. *Microbial Pest Control*, New York, Marcel Dekker Inc.
- Marhaeni, B., Radjasa, O. K., Bengen, D. G. & F.Kaswadji, R. 2010. Screening of bacterial symbionts of seagrass *Enhalus* sp. against biofilm forming bacteria. *Journals of coastal development*, 12, 120-132.
- Nybakken, J. W. 1991. *Biologi laut suatu pendekatan ekologis*, Jakarta, PT.Gramedia.
- Proksch, P., Edrada-Ebel, R. & Ebel, R. 2002. Drugs from the seas-current status and microbiological implications. *Applied Microbiology Biotechnology*, 59, 125-134.
- Proksch, P., Edrada-Ebel, R. & Ebel, R. 2003. Drugs from the sea-opportunities and obstacles. *Marine Drugs*, 1, 5-17.
- Radjasa, O. K. 2008. *Bioprospeksi bakteri simbiosis invertebrata terumbu karang*, Semarang, Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Sabdono, A. 2008. Bacterial symbionts of reef's invertebrates: a marine natural drug's factory. *Journal of Coastal Development*, 12, 13-19.
- Sastroutomo, S. S. 2012. *Pestisida: Dasar-dasar dan Dampak Penggunannya*, Jakarta, PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Sayono, Safruddin, D. & Sumanto, D. Year. Distribusi Resistensi Nyamuk *Aedes aegypti* terhadap Insektisida Sipermetrin di Semarang. In: Seminar Hasil-Hasil Penelitian, 2012 Universitas Muhammadiyah Semarang. LPPM-Unimus, 262-269.
- Sulistiyani, Hestiningih, R. & Rahmawati, D. N. Year. Biolarvacides Activity of Bacterial symbionts softcoral *Sarcophyton* sp. SCRTG4P4 against *Aedes aegypti*. In: Ginandjar, P., Rahayuning, D. & Saraswati, L. D., eds. International Conference: Integrated Vector Management "Health and Environmental Perspective" 2013 Semarang, Indonesia. Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Sulistiyani, Nugraheni, S. A., Khoeri, M. M., Sabdono, A. & Radjasa, O. K. 2010a. Antibacterial activity of bacterial symbiont of softcoral *Sinularia* sp. against pathogenic resistant bacteria. *Journal of Coastal Development*, 13, 113-118.
- Sulistiyani, Nugraheni, S. A., Radjasa, O. K., Sabdono, A. & Khoeri, M. M. 2010b. Antibacterial activities of bacterial symbionts of soft coral *Sinularia* sp. against tuberculosis bacteria. *Journal of Coastal Development*, 14, 45-50.
- Sulistiyani, Wahjono, H., Radjasa, O. K., Sabdono, A., Khoeri, M. M. & Karyana, E. 2015. Antimycobacterial Activities from Seagrass *Enhalus* sp. Associated Bacteria against Multi Drug Resistance Tuberculosis (MDR TB) Bacteria. *Procedia Environmental Science*, 23(2015), 253-259.
- Sya'rani, L. & Suryanto, A. 2006. *Gambaran umum kepulauan karimunjawa*, Semarang, Unissula Press.
- Venugopal, V. 2009. *Marine products for healthcare: Functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean*, New York, CRC Press.

- Wah, H. L. K., Jhaumeer-Laulloo, S., Yive, R. C. K., Bonnard, I., Banaigs, B. & Marie, D. 2006. Biological and chemical study of some soft corals and sponges collected in mauritian waters. *Western Indian Ocean J.Mar.Sci*, 5, 115-121.
- Webster, N. & Hill, R. 2007. Vulnerability of marine microbes on the great barrier reef to climate change. *In: Johnson, J. E. & Marshall, P. A. (eds.) Climate change and the great barrier reef: a vulnerability assessment*  
Queensland: Great Barrier Reef Marine Park Authority, Townsville, Australia and the Australian Greenhouse Office, in the Department of the Environment and Water Resources.
- Zheng, L., Han, X., Chen, H., Lin, W. & Yan, X. 2005. Marine bacteria associated with marine microorganism: the potential antimicrobial resources. *Annals of Microbiology*, 55, 119-124.

# Aktivitas Biolarvasida dan Bioinsektisida Bakteri Simbion Biota Laut : Laporan Riset Pengembangan dan Penerapan (RPP)

## ORIGINALITY REPORT

13%

SIMILARITY INDEX

13%

INTERNET SOURCES

0%

PUBLICATIONS

3%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1

[repository.ipb.ac.id](http://repository.ipb.ac.id)

Internet Source

4%

2

[eprints.undip.ac.id](http://eprints.undip.ac.id)

Internet Source

4%

3

[greenactiongallery.blogspot.com](http://greenactiongallery.blogspot.com)

Internet Source

3%

4

[id.wikipedia.org](http://id.wikipedia.org)

Internet Source

3%

Exclude quotes Off

Exclude matches < 2%

Exclude bibliography Off